

Xpert MTB/RIF Ultra[®]

REF GXMTB/RIF-ULTRA-10

REF GXMTB/RIF-ULTRA-50

Instruções de utilização

IVD CE

Declarações relativas a marcas registadas, patentes e copyright

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®], and Xpert[®] are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries. All other trademarks are the property of their respective owners.

THE PURCHASE OF THIS PRODUCT CONVEYS TO THE BUYER THE NON-TRANSFERABLE RIGHT TO USE IT IN ACCORDANCE WITH THESE INSTRUCTIONS FOR USE. NO OTHER RIGHTS ARE CONVEYED EXPRESSLY, BY IMPLICATION OR BY ESTOPPEL. FURTHERMORE, NO RIGHTS FOR RESALE ARE CONFERRED WITH THE PURCHASE OF THIS PRODUCT.

© 2017–2023 Cepheid.

Cepheid[®], o logótipo da Cepheid, GeneXpert[®], e Xpert[®] são marcas comerciais da Cepheid, registadas nos EUA e noutros países.

Todas as restantes marcas comerciais pertencem aos respetivos proprietários.

A AQUISIÇÃO DESTE PRODUTO ATRIBUI AO COMPRADOR O DIREITO NÃO TRANSFERÍVEL DE O UTILIZAR DE ACORDO COM ESTAS INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO. NENHUNS OUTROS DIREITOS SÃO ATRIBUÍDOS EXPRESSAMENTE, POR IMPLICAÇÃO OU POR PRECLUSÃO. ALÉM DISSO, NÃO SE CONFEREM NENHUNS DIREITOS DE REVENDA COM A AQUISIÇÃO DESTE PRODUTO.

© 2017–2023 Cepheid.

Consulte uma descrição das alterações em Secção 21, Histórico de revisões.

Xpert MTB/RIF Ultra®

Para utilização em diagnóstico *in vitro*

1 Nome proprietário

Xpert® MTB/RIF Ultra

2 Nome comum ou usual

Xpert MTB/RIF Ultra

3 Utilização prevista

O teste Xpert MTB/RIF Ultra, efetuado no GeneXpert® Instrument Systems, é um teste de diagnóstico *in vitro* de reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real “nested” semiquantitativo para a detecção de ADN do complexo *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) em amostras de expetoração não processadas ou em sedimentos concentrados preparados a partir de expetoração induzida ou espontânea. Em amostras onde o complexo *Mycobacterium tuberculosis* é detetado, o teste Xpert MTB/RIF Ultra pode também detetar as mutações do gene *rpoB* associadas à resistência à rifampicina.

O teste Xpert MTB/RIF Ultra destina-se a ser utilizado com amostras de doentes com suspeita clínica de tuberculose (TB) e que não tenham recebido terapêutica anti-tuberculose ou com menos de 3 dias de terapêutica nos últimos 6 meses. O teste destina-se a servir como auxiliar do diagnóstico da tuberculose pulmonar quando utilizado em conjunto com resultados clínicos e outros resultados laboratoriais.

4 Resumo e explicação

Cerca de 1,7 mil milhões de pessoas a nível global encontram-se infetadas com MTB.¹ Em 2018, 10,0 milhões de pessoas desenvolveram doença ativa e 1,45 milhões de pessoas faleceram devido a esta doença.² A TB pulmonar transmite-se por via aérea, o que faz com que seja uma doença altamente transmissível. Dada a natureza infecciosa da TB pulmonar, o diagnóstico rápido e exato é um elemento importante no controlo e tratamento da TB pulmonar.

O tratamento envolve a administração prolongada de múltiplos fármacos e é normalmente muitíssimo eficaz. Todavia, as estirpes de *M. tuberculosis* podem desenvolver resistência a um ou mais fármacos, fazendo com que a cura seja muito mais difícil de alcançar. Os quatro fármacos frequentes de primeira linha utilizados na terapêutica anti-tuberculose são a isoniazida (INH), rifampicina (RIF), etambutol (EMB) e pirazinamida (PZA). Conforme documentado pela Organização Mundial de Saúde, a resistência à RIF é raramente detetada de forma isolada e normalmente indica resistência a diversos outros fármacos anti-TB.³ É detetada com mais frequência em estirpes multirresistentes (MDR-TB) (definida como resistente tanto à RIF como à INH) e uma frequência reportada superior a 95% nestes isolados.^{4,5,6} A resistência à RIF ou a outros fármacos de primeira linha normalmente é indicadora da necessidade de testes de suscetibilidade completos, incluindo o teste a agentes de segunda linha.

A detecção molecular da TB e das mutações do gene *rpoB* associadas à resistência à RIF reduzem consideravelmente o período de tempo para o diagnóstico da tuberculose suscetível a fármacos e da tuberculose MDR. Com o teste Xpert MTB/RIF Ultra, tal pode ser conseguido em amostras de expetoração não processadas e em sedimentos preparados em menos de 80 minutos. A rápida detecção de MTB e da resistência à RIF permite ao médico tomar decisões de tratamento críticas relativamente à terapia do doente, durante uma única consulta.

5 Princípio do procedimento

O GeneXpert Instrument Systems integra e automatiza o processamento de amostras, a amplificação de ácidos nucleicos e a detecção das sequências-alvo em amostras simples ou complexas utilizando ensaios de PCR em tempo real e detecção de picos de fusão. O sistema é composto por um instrumento, um computador, um leitor de códigos de barras e software pré-instalado para efetuar testes em amostras de doentes e visualizar os resultados. O sistema requer a utilização de cartuchos GeneXpert descartáveis, de utilização única, que contêm os reagentes de PCR e onde decorre o processo de PCR. Dado que os cartuchos são independentes, é minimizada a contaminação cruzada entre amostras. Para obter uma descrição completa do sistema, consulte o *GeneXpert Dx System Operator Manual*, *GeneXpert Edge System User's Guide* ou *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

O teste Xpert MTB/RIF Ultra inclui reagentes para a detecção de MTB e resistência à RIF, bem como um controlo de processamento da amostra (Sample processing control, SPC) para controlar o processamento adequado das bactérias-alvo e para monitorizar a presença de inibidor(es) na reação PCR e detecção do pico de fusão subsequente. O controlo de verificação da sonda (PCC — Probe Check Control) verifica a reidratação dos reagentes, o enchimento do tubo de PCR no cartucho, a integridade da sonda e a estabilidade do corante.

Os primers no teste Xpert MTB/RIF Ultra amplificam uma parte do gene *rpoB* que contém a região "core" de 81 pares de bases e partes das sequências-alvo dos elementos de inserção *IS1081* e *IS6110* multicópia. A análise de fusão com quatro sondas do *rpoB* têm a capacidade de diferenciar entre a sequência conservada do tipo selvagem e mutações na região "core" que estão associadas à resistência à RIF. As duas sondas do elemento de inserção potenciam a detecção do complexo *Mycobacterium tuberculosis* devido às sequências-alvo do elemento de inserção multicópia na maioria das estirpes de TB.

6 Reagentes e instrumentos

6.1 Materiais fornecidos

Os kits do teste Xpert MTB/RIF Ultra contêm reagentes suficientes para processar 10 ou 50 amostras. Os kits contêm o seguinte:

Xpert MTB/RIF Ultra Cartuchos com tubos de reação integrados	10 por kit	50 por kit
<ul style="list-style-type: none"> Esfera 1 e Esfera 2 (liofilizadas) Esfera 3 (liofilizada) Reagente 1 Reagente 2 	2 de cada por cartucho 1 de cada por cartucho 4 ml por cartucho 4 ml por cartucho	2 de cada por cartucho 1 de cada por cartucho 4 ml por cartucho 4 ml por cartucho
Frascos de reagente de amostra	10	50
<ul style="list-style-type: none"> Reagente de amostra 	8 ml por frasco	8 ml por frasco
Pipetas de transferência descartáveis	12 por kit	60 por kit
CD	1 por kit	1 por kit
<ul style="list-style-type: none"> Ficheiros de definição do ensaio (ADF — assay definition files) Instruções para importar o ADF para o software Instruções de utilização (folheto informativo) 		

Nota O reagente de amostra (SR) pode variar entre incolor a amarelo ou âmbar. A cor pode intensificar-se ao longo do tempo, porém esta não tem qualquer efeito no desempenho.

Nota As fichas de dados de segurança (FDS) estão disponíveis em www.cepheid.com ou www.cepheidinternational.com no separador **ASSISTÊNCIA (SUPPORT)**.

Nota A soroalbumina bovina (Bovine Serum Albumin, BSA) presente nas esferas deste produto foi produzida e fabricada a partir de plasma bovino proveniente exclusivamente dos EUA. Os animais não foram alimentados com nenhuma proteína de ruminante ou outra proteína animal e foram aprovados nos testes ante- e post-mortem. Durante o processamento, não houve mistura do material com outros materiais de origem animal.

Nota As pipetas de transferência contêm uma marca única que representa o volume mínimo de amostra tratada que é necessário transferir para o cartucho. Utilize unicamente para este fim. Todas as outras pipetas devem ser fornecidas pelo laboratório.

6.2 Conservação e manuseamento

- Conserve os cartuchos do teste Xpert MTB/RIF Ultra entre 2 °C e 28 °C.
- Não abra a tampa do cartucho até estar pronto para realizar o teste.
- Não utilize reagentes ou cartuchos que tenham ultrapassado o prazo de validade.

7 Materiais necessários, mas não fornecidos

- GeneXpert Dx System, GeneXpert Infinity System ou GeneXpert Edge System (o número de catálogo varia consoante a configuração): Instrumento GeneXpert, computador com software proprietário, versão 4.7b ou posterior (GeneXpert Dx System), Xpertise™ 6.4b ou posterior (GeneXpert Infinity System), software GeneXpert Edge, versão 1.0 (GeneXpert Edge System), leitor de código de barras e manual do utilizador
- Impressora: caso necessite de uma impressora, contacte o Representante de Vendas da Cepheid para tratar da aquisição de uma impressora recomendada.
- Recipientes de colheita estanques, estéreis e de tampa roscada
- Luvas descartáveis
- Rótulos e/ou marcador permanente para rotulagem
- Pipetas estéreis para o processamento de amostras

8 Advertências, precauções e perigos químicos


8.1 Declarações de atenção e precauções

- Trate todas as amostras biológicas, incluindo os cartuchos usados, como sendo capazes de transmitir agentes infecciosos. Dado que é frequentemente impossível saber quais as amostras biológicas que poderão ser infecciosas, devem ser todas tratadas com as precauções predefinidas. Orientações para o manuseamento de amostras estão disponíveis nos CDC (Centers for Disease Control and Prevention)⁷ dos EUA e no Clinical and Laboratory Standards Institute.⁸
- Use luvas descartáveis de proteção, bata e proteção ocular durante o manuseamento de amostras e reagentes. Lave muito bem as mãos após o manuseamento das amostras e dos reagentes do teste.
- Siga os procedimentos de segurança da sua instituição quando trabalhar com produtos químicos e manusear amostras biológicas.
- Não substitua os reagentes do teste Xpert MTB/RIF Ultra por outros reagentes.
- Não abra a tampa do cartucho do teste Xpert MTB/RIF Ultra, exceto durante a adição da amostra tratada.
- Não utilize um cartucho que tenha caído depois de o ter retirado do kit.
- Não utilize um cartucho que tenha caído ou que foi agitado ou cujo conteúdo foi derramado depois de ter adicionado a amostra tratada. Agitar ou deixar cair o cartucho depois da abertura da tampa pode produzir resultados falsos ou indeterminados.
- Não coloque o rótulo de ID da amostra na tampa do cartucho ou no rótulo do código de barras.
- Não utilize um cartucho se este parecer húmido ou se o selo da tampa parecer estar partido.
- Não utilize um cartucho que tenha um tubo de reação danificado.
- Quando processar mais do que uma amostra simultaneamente, abra apenas um cartucho; adicione a amostra tratada com reagente de amostra e feche a tampa do cartucho antes de processar a próxima amostra. Trocar de luvas entre as amostras.
- Cada cartucho de utilização única do teste Xpert MTB/RIF Ultra é utilizado para processar um teste. Não reutilizar cartuchos processados.
- É necessário cumprir as boas práticas de laboratório e trocar as luvas entre o manuseamento de amostras de doentes diferentes para evitar a contaminação quer das amostras, quer dos reagentes. Limpe regularmente as superfícies/áreas de trabalho com lixívia a 10% e volte a limpar a superfície com etanol ou álcool isopropílico a 70% antes e depois de processar amostras.
- Amostras biológicas, dispositivos de transferência e cartuchos usados devem ser considerados como tendo potencial de transmissão de agentes infecciosos que exigem precauções padrão. Siga os procedimentos relativos a resíduos ambientais

da sua instituição relativamente à eliminação correta de cartuchos usados e reagentes não usados. Estes materiais podem apresentar características de resíduos químicos perigosos que exigem procedimentos de eliminação nacionais ou regionais específicos. Se as regulamentações nacionais ou regionais não disponibilizarem uma indicação clara sobre a eliminação correta, as amostras biológicas e os cartuchos usados devem ser eliminados de acordo com as diretrizes relativas ao manuseamento e à eliminação de resíduos médicos da OMS (Organização Mundial da Saúde).

8.2 Perigos químicos^{9,10}

Reagente de amostra

- Contém álcool isopropílico
- Contém hidróxido de sódio
- Palavra-sinal: PERIGO
- Pictogramas de perigo GHS da ONU: 

Advertências de perigo GHS da ONU

- Líquido e vapor inflamáveis
- Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves.
- Provoca lesões oculares graves.
- Suspeito de provocar anomalias genéticas.
- Suspeito de afetar a fertilidade ou o nascituro.
- Pode lesionar os órgãos após uma exposição prolongada ou repetida.

Declarações de precaução

Prevenção

- Pedir instruções específicas antes da utilização.
- Não manuseie o produto antes de ter lido e percebido todas as precauções de segurança.
- Manter afastado do calor, faísca, chama aberta e/ou superfícies quentes. Não fumar.
- Manter o recipiente bem fechado.
- Não respirar névoas, vapores e/ou aerossóis.
- Lavar cuidadosamente após manuseamento.
- Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial.
- Usar o equipamento de proteção individual exigido.

Resposta

- Em caso de incêndio: utilizar os meios adequados para a extinção.
- EM CASO DE INALAÇÃO: retirar a vítima para uma zona ao ar livre e mantê-la em repouso numa posição que não dificulte a respiração.
- Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico.
- SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): Retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água/tomar um duche.
- Lavar a roupa contaminada antes de a voltar a usar.
- Tratamento específico (ver informação de primeiros-socorros suplementar no presente rótulo).
- SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar.
- EM CASO DE INGESTÃO: Enxaguar a boca. NÃO provocar o vômito.
- EM CASO DE exposição ou suspeita de exposição: consulte um médico.
- Em caso de indisposição, consulte um médico.

Conservação/Eliminação

- Eliminar o conteúdo e/ou recipiente de acordo com a regulamentação local, regional, nacional e/ou internacional.

9 Colheita, transporte e conservação de amostras

Colheita de amostras

Siga o protocolo da sua instituição relativamente à colheita de amostras.

Proceda à colheita de expectoração ou de expectoração induzida com aerossol seguindo os procedimentos padrão da sua instituição. Teste expectoração não processada ou sedimento de expectoração concentrado/descontaminado. Consulte a tabela abaixo para definir o volume adequado da amostra.

Tabela 1. Volume adequado da amostra

Tipo de amostra	Volume mínimo para um teste	Volume da amostra máximo	Rácio amostra para reagente de amostra (SR)
Sedimento de expectoração	0,5 ml	2,5 ml	1:3 ^a
Expectoração não processada	1 ml	4,0 ml	1:2

^a O rácio amostra para SR de 1:2 deve ser utilizado com um volume da amostra igual ou superior 0,7 ml para um teste.

Conservação e transporte

Sedimento de expectoração: Armazene os sedimentos ressuspensos entre 2 °C e 8 °C até um período máximo de sete dias.

Expectoração não processada: Transporte e armazene as amostras de expectoração entre 2 °C e 8 °C antes do processamento, sempre que possível. Se necessário, as amostras de expectoração não processadas podem ser conservadas a uma temperatura máxima de 35 °C até um período máximo de três dias e, de seguida, entre 2 °C e 8 °C por mais sete dias.

10 Procedimento do ensaio

10.1 Procedimento para sedimentos de expectoração descontaminados e concentrados

Nota Rejeite amostras que contenham partículas de alimentos visíveis ou outras partículas sólidas.

Requisitos de volume: os sedimentos de expectoração preparados de acordo com o método de Kent e Kubica¹¹ e ressuspensos em tampão fosfato/H₂O 67 mM podem ser testados utilizando o teste Xpert MTB/RIF Ultra. Depois da ressuspensão, reserve pelo menos 0,5 ml do sedimento ressuspensionado para o teste Xpert MTB/RIF Ultra. Para todos os volumes inferiores a 0,7 ml efetue os passos 1–6. Estes passos requerem 3 partes de reagente de amostra (SR) para 1 parte de sedimento, de modo a gerar um volume adequado (~2 ml) para um desempenho ótimo do ensaio.

Se o volume da amostra for igual ou superior a 0,7 ml, o volume de teste adequado pode ser produzido adicionando 2 partes de SR para 1 parte de sedimento. Neste exemplo, 1,4 ml de SR seriam adicionados a 0,7 ml de sedimento. Estes volumes aumentam num rácio de 2 partes de SR para 1 parte de sedimento.

1. Aguarde até que o cartucho atinja a temperatura ambiente. Rotule cada cartucho do teste Xpert MTB/RIF Ultra com a ID da amostra. Ver Figura 1.

Nota Escreva na parte lateral do cartucho ou coloque um rótulo de identificação. Não coloque o rótulo na tampa do cartucho nem sobre o código de barras 2D existente no mesmo.

2. Misture o sedimento agitando-o no vórtex ou utilize uma pipeta para aspirar e ejetar o material o número de vezes suficiente para garantir que todos os organismos estão em suspensão.
3. Transfira 0,5 ml do total do pellet ressuspensionado para um tubo cónico com tampa roscada para o teste Xpert MTB/RIF Ultra utilizando uma pipeta de transferência.

Nota Conserve os sedimentos ressuspensos entre 2 °C e 8 °C, caso não sejam processados de imediato. Não execute o teste Xpert MTB/RIF Ultra em sedimentos ressuspensos que tenham sido refrigerados durante um período > 7 dias.

4. Utilizando uma pipeta de transferência, transfira 1,5 ml de reagente de amostra (SR) do Xpert MTB/RIF Ultra para 0,5 ml de sedimento ressuspensionado. Aperte bem a tampa.
 5. Agite vigorosamente 10 a 20 vezes ou leve ao vórtice durante pelo menos 10 segundos.
-

Nota Um movimento para a frente e para trás corresponde a uma única agitação.

6. Incube durante 10 minutos à temperatura ambiente e, depois, agite vigorosamente a amostra 10 a 20 vezes ou leve ao vórtice durante pelo menos 10 segundos.
 7. Proceda à incubação da amostra à temperatura ambiente durante mais 5 minutos.
-

10.2 Procedimento para expetoração não processada

Requisito de volume: é necessário ≥ 1 ml de expetoração não processada.

1. Aguarde até que o cartucho atinja a temperatura ambiente. Rotule cada cartucho do teste Xpert MTB/RIF Ultra com a ID da amostra. Ver Figura 1.
-

Nota Escreva na parte lateral do cartucho ou coloque um rótulo de identificação. Não coloque o rótulo na tampa do cartucho nem sobre o código de barras 2D existente no mesmo.



Figura 1. Escreva no cartucho com uma caneta de marcação permanente

2. Após receber a amostra num recipiente de recolha de expetoração estanque, abra cuidadosamente a tampa do recipiente de recolha de expetoração e examine o conteúdo para se certificar de que não existem partículas de alimentos nem outras partículas sólidas.
-

Nota Rejeite amostras que contenham partículas de alimentos visíveis ou outras partículas sólidas.



Figura 2. Abrir o recipiente da amostra

3. Verta cerca de 2 vezes o volume do SR na expetoração (diluição 2:1, SR:expetoração).

Nota Deposite o SR remanescente e o frasco num recipiente para resíduos químicos.



Figura 3. Exemplo de diluição de 2:1 (8 ml de SR:4 ml de expetoração)



Figura 4. Exemplo de diluição de 2:1 (2 ml de SR:1 ml de expetoração)

4. Recoloque e aperte bem a tampa. Agite vigorosamente 10 a 20 vezes ou leve ao vórtice durante pelo menos 10 segundos.

Nota Um movimento para a frente e para trás corresponde a uma única agitação.

5. Incube a amostra durante 10 minutos à temperatura ambiente.
6. Agite vigorosamente a amostra 10 a 20 vezes ou leve ao vórtice durante pelo menos 10 segundos. Proceda à incubação da amostra à temperatura ambiente durante mais 5 minutos.

Nota Certifique-se de que a amostra se encontra totalmente liquefeita. Se a amostra não se encontrar liquefeita, repita este passo.

10.3 Preparação do cartucho

Nota Se utilizar o GeneXpert Dx System ou GeneXpert Edge System, inicie o teste dentro de 4 horas após a adição da amostra ao cartucho. Assim que a amostra tiver sido adicionada ao cartucho, este deve permanecer à temperatura ambiente antes de iniciar o teste no prazo de quatro horas. Se utilizar um GeneXpert Infinity System, certifique-se de que inicia o teste e coloca o cartucho no tapete rolante no prazo de 30 minutos após a adição da amostra tratada com reagente de amostra ao cartucho. O prazo de validade restante é registado pelo software Xpertise de modo a que os testes sejam executados antes do final do período de quatro horas no instrumento.

1. Abra a tampa do cartucho e depois abra o recipiente da amostra.
2. Usando a pipeta de transferência fornecida, aspire a amostra liquefeita até imediatamente acima da linha na pipeta. Ver Figura 5. Não prossiga com o processamento da amostra no caso de o volume ser insuficiente.



Figura 5. Aspirar até à linha na pipeta

3. Transfira a amostra para a câmara da amostra do cartucho Xpert MTB/RIF Ultra. Distribua a amostra lentamente para minimizar o risco de formação de aerossol. Ver Figura 6.



Figura 6. Distribuir a amostra liquefeita descontaminada na câmara da amostra do cartucho

4. Feche a tampa do cartucho firmemente. A amostra liquefeita remanescente pode ser conservada até 4 horas entre 2 °C e 8 °C, caso seja necessário repetir o teste.

11 Execução do teste

- Para o GeneXpert Dx System, consulte Secção 11.1.
- Para o GeneXpert Edge System, consulte Secção 11.2.
- Para o GeneXpert Infinity System, consulte Secção 11.3.

11.1 GeneXpert Dx System

11.1.1 Iniciar o teste

Antes de iniciar o teste, certifique-se de que:

- Importante**
- O sistema está a funcionar com a versão do software GeneXpert Dx correta mostrada na secção Materiais necessários mas não fornecidos.
 - O ficheiro de definição do teste correto foi importado para o software.

Esta secção indica as etapas básicas para a execução do teste. Para obter instruções detalhadas, consulte *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

Nota Os passos a seguir poderão ser diferentes se o administrador do sistema tiver alterado o fluxo de trabalho predefinido do sistema.

1. Ligue o GeneXpert Dx System e depois ligue o computador e inicie sessão. O software GeneXpert arranca automaticamente. Se não arrancar, faça duplo clique no ícone de atalho do software GeneXpert Dx no ambiente de trabalho do Windows®.
2. Inicie sessão com o seu nome de utilizador e palavra-passe.
3. Na janela do **sistema GeneXpert**, clique em **Criar teste (Create Test)**. É apresentada a janela **Criar teste (Create Test)**. Abre-se a caixa de diálogo **Ler código de barras da ID do doente (Scan Patient ID barcode)**.
4. Leia ou introduza a ID do doente (Patient ID). Se digitar a ID do doente (Patient ID), assegure-se de que digita a ID do doente correta.
A ID do doente (Patient ID) é associada aos resultados do teste e é apresentada na janela **Ver resultados (View Results)** e em todos os relatórios. Abre-se a caixa de diálogo **Ler código de barras da ID da amostra (Scan Sample ID barcode)**.
5. Leia ou introduza a ID da amostra (Sample ID). Se digitar a ID da amostra (Sample ID), assegure-se de que digita a ID da amostra correta.
A ID da amostra é associada aos resultados do teste e é apresentada na janela **Ver resultados (View Results)** e em todos os relatórios. Abre-se a caixa de diálogo **Ler código de barras do cartucho (Scan Cartridge Barcode)**.
6. Leia o código de barras do cartucho. Utilizando a informação do código de barras, o software preenche automaticamente as caixas para os seguintes campos: Seleccionar teste (Select Assay), ID lote de reagente (Reagent Lot ID), N/S do cartucho (Cartridge SN) e Prazo de validade (Expiration Date).

Nota Se o código de barras no cartucho não puder ser lido digitalmente, repita o teste com um novo cartucho. Se tiver lido o código de barras do cartucho no software e o ficheiro de definição do teste não estiver disponível, será apresentado um ecrã a indicar que o ficheiro de definição do teste não está carregado no sistema. Se este ecrã for apresentado, contacte a assistência técnica da Cepheid.

7. Faça clique em **Iniciar teste (Start Test)**. Introduza a sua palavra-passe na caixa de diálogo apresentada, caso seja necessário.
8. Abra a porta do módulo do instrumento com a luz verde a piscar e carregue o cartucho.
9. Feche a porta. O teste começa e a luz verde para de piscar.
Quando o teste termina, a luz desliga-se.
10. Aguarde até o sistema desbloquear a porta do módulo antes de a abrir e, em seguida, retire o cartucho.
11. Elimine os cartuchos usados no recipiente apropriado para resíduos de amostras, de acordo com as práticas padrão da sua instituição.

11.1.2 Visualização e impressão de resultados

Esta secção discrimina os passos básicos para a visualização e a impressão dos resultados. Para obter instruções detalhadas sobre como ver e imprimir os resultados, consulte o *Manual do utilizador sistema GeneXpert Dx (GeneXpert Dx System Operator Manual)*.

1. Clique no ícone **Ver resultados (View Results)** para visualizar os resultados.
2. Após a conclusão do teste, clique no botão **Relatório (Report)** da janela **Ver resultados (View Results)** para visualizar e/ou gerar um relatório em ficheiro PDF.

11.2 GeneXpert Edge System

(Poderá não estar disponível em todos os países)

11.2.1 Iniciar um novo teste

Depois de o primeiro teste estar em curso, pode ser iniciado outro teste.

1. Toque no botão **INÍCIO (HOME)**.
O ecrã **Início (Home)** apresentará o módulo que está a ser utilizado como acinzentado e com a indicação de que a colheita de dados está a decorrer.
2. Toque no botão **EXECUTAR NOVO TESTE (RUN NEW TEST)** e prossiga com o novo teste após os passos na Iniciar o teste.
3. Depois de o segundo teste estar em curso, toque no botão **INÍCIO (HOME)**.
Apresenta-se o estado de ambos os testes. Quando um teste for concluído, o texto do ícone mudará para **Recolha de dados concluída (Data collection complete)** e mostrará um sinal de visto no ícone.
4. Toque no ícone **Recolha de dados concluída (Data collection complete)** para mostrar o ecrã **Retirar cartucho (Remove Cartridge)**. Siga as instruções no ecrã para remover o cartucho.

11.2.2 Visualização e impressão de resultados

Esta secção discrimina os passos básicos para a visualização e a impressão dos resultados. Para obter instruções detalhadas sobre como ver e imprimir os resultados, consulte o *GeneXpert Edge System User's Guide*.

Nota Se estiver a emitir o relatório de resultados utilizando um LIS, confirme que os resultados do LIS correspondem aos resultados do sistema para o campo ID do paciente (Patient ID); se os resultados estiverem em conflito, emita o relatório apenas dos resultados do sistema.

1. Toque no botão **VER TESTES ANTERIORES (VIEW PREVIOUS TESTS)** no ecrã **Início (Home)**.
2. No ecrã **Selecionar teste (Select Test)**, selecione o teste, tocando no nome de teste ou utilizando as setas para seleccionar o teste.

11.3 GeneXpert Infinity System

11.3.1 Iniciar o teste

Antes de iniciar o teste, certifique-se de que:

- Importante**
- O sistema está a funcionar com a versão do software Xpertise correta mostrada na secção Materiais necessários mas não fornecidos.
 - O ficheiro de definição do teste correto foi importado para o software.

Esta secção indica as etapas básicas para a execução do teste. Para obter instruções detalhadas, consulte *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

Nota Os passos a seguir poderão ser diferentes se o administrador do sistema tiver alterado o fluxo de trabalho predefinido do sistema.

1. Ligue o instrumento. O software Xpertise arranca automaticamente. Se não arrancar, faça duplo clique no ícone de atalho do software Xpertise no ambiente de trabalho do Windows®.

2. Inicie sessão no computador e, em seguida, inicie sessão no software GeneXpert Xpertise, utilizando o seu nome de utilizador e palavra-passe.
3. Na **área de trabalho inicial do software Xpertise (Xpertise Software Home)**, clique em **Pedidos (Orders)** e, na área de trabalho de **Pedidos (Orders)**, clique em **Pedir teste (Order Test)**.
É apresentada a área de trabalho de **Pedir teste - ID do doente (Order Test - Patient ID)**.
4. Leia ou introduza a ID do doente (Patient ID). Se digitar a ID do doente (Patient ID), assegure-se de que digita a ID do doente correta.
A ID do doente (Patient ID) é associada aos resultados do teste e é apresentada na janela **Ver resultados (View Results)** e em todos os relatórios.
5. Introduza quaisquer informações adicionais exigidas pela sua instituição e clique no botão **CONTINUAR (CONTINUE)**.
É apresentada a área de trabalho **Pedir teste - ID da amostra (Order Test - Sample ID)**.
6. Leia ou introduza a ID da amostra (Sample ID). Se digitar a ID da amostra (Sample ID), assegure-se de que digita a ID da amostra correta.
A ID da amostra é associada aos resultados do teste e é apresentada na janela **Ver resultados (View Results)** e em todos os relatórios.
7. Clique no botão **CONTINUAR (CONTINUE)**.
A área de trabalho **Pedir teste - Teste (Order Test - Assay)** é apresentada.
8. Leia o código de barras do cartucho. Utilizando a informação do código de barras, o software preenche automaticamente as caixas para os seguintes campos: Selecionar teste (Select Assay), ID lote de reagente (Reagent Lot ID), N/S do cartucho (Cartridge SN) e Prazo de validade (Expiration Date).

Nota

Se o código de barras no cartucho não puder ser lido digitalmente, repita o teste com um novo cartucho. Se tiver lido o código de barras do cartucho no software e o ficheiro de definição do teste não estiver disponível, será apresentado um ecrã a indicar que o ficheiro de definição do teste não está carregado no sistema. Se este ecrã for apresentado, contacte a assistência técnica da Cepheid.

Depois de efetuar a leitura do cartucho, será apresentada a área de trabalho de **Pedir teste - Informação sobre o teste (Order Test - Test Information)**.

9. Verifique se as informações estão corretas e clique em **Submeter (Submit)**. Introduza a sua palavra-passe na caixa de diálogo apresentada, caso seja necessário.
10. Coloque o cartucho na correia transportadora.
O cartucho será carregado automaticamente, o teste será executado e o cartucho usado será colocado no recipiente para resíduos.

11.3.2 Visualização e impressão de resultados

Esta secção discrimina os passos básicos para a visualização e a impressão dos resultados. Para obter instruções detalhadas sobre como ver e imprimir os resultados, consulte o *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

1. Na **área de trabalho inicial do software Xpertise**, clique no ícone de **RESULTADOS (RESULTS)**. É apresentado o menu Resultados (Results).
2. No menu Resultados (Results), seleccione o botão **VER RESULTADOS (VIEW RESULTS)**. É apresentada a área de trabalho de **Ver resultados (View Results)**, mostrando os resultados do teste.
3. Clique no botão **RELATÓRIO (REPORT)** para visualizar e/ou gerar um relatório em ficheiro PDF.

12 Controlo de qualidade

Cada teste inclui um controlo de processamento da amostra (SPC) e um controlo de verificação da sonda (PCC).

Controlo de processamento da amostra (SPC).

Assegura que a amostra foi processada corretamente. O SPC contém esporos não infecciosos, sob a forma de um bolo seco de esporos que está incluído em cada cartucho para verificar o processamento adequado do MTB. O SPC verifica se ocorreu a lise do MTB se os organismos estiverem presentes e verifica se o processamento da amostra é adequado. Adicionalmente, este controlo deteta a inibição associada à amostra do ensaio de PCR em tempo real.

O SPC deve ser positivo em amostras negativas e pode ser negativo ou positivo em amostras positivas. O SPC é aprovado se preencher os critérios de aceitação validados. O resultado do teste será “Inválido (Invalid)” se o SPC não for detetado num teste negativo.

Controlo de verificação da sonda (PCC)

Antes do início da reação PCR, o teste Xpert MTB/RIF Ultra mede o sinal de fluorescência das sondas para monitorizar a reidratação da esfera, o enchimento do tubo de reação, a integridade da sonda e a estabilidade do corante. O PCC é aprovado se preencher os critérios de aceitação atribuídos.

13 Interpretação dos resultados

O sistema do instrumento GeneXpert produz os resultados a partir dos sinais fluorescentes medidos e de algoritmos de cálculo incorporados. Os resultados podem ser vistos na janela **Ver resultados (View Results)**. Consulte as Figura 7, Figura 8, Figura 9, Figura 10, Figura 11 e Figura 12 para obter exemplos específicos e consulte a Tabela 3 para obter uma lista de todos os resultados possíveis.

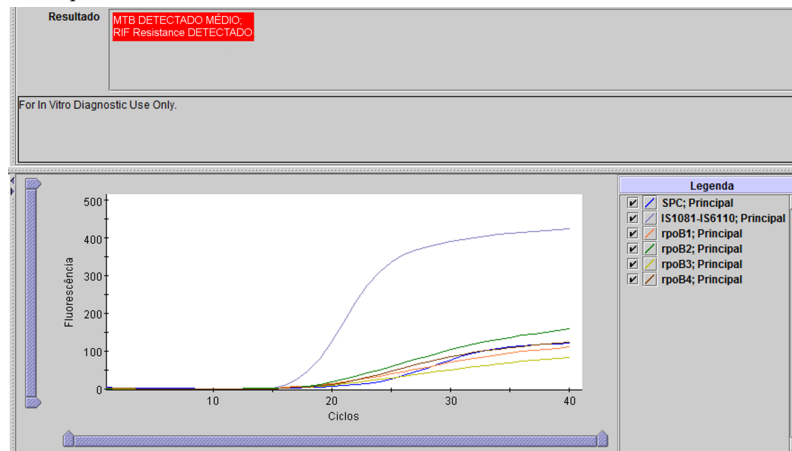


Figura 7. DETETADO MTB MÉDIO; DETETADA Resistência à RIF (MTB DETECTED MEDIUM; RIF Resistance DETECTED) (Vista de utilizador detalhado do GeneXpert Dx)

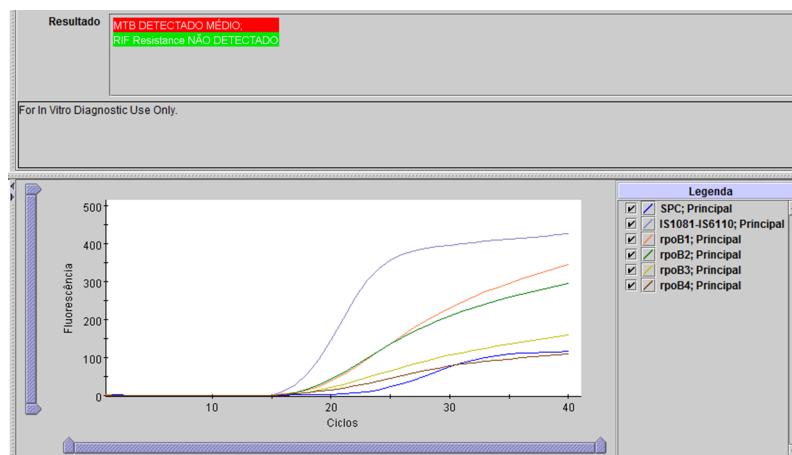


Figura 8. DETETADO MTB MÉDIO, NÃO DETETADA Resistência à RIF (MTB DETECTED MEDIUM; RIF Resistance NOT DETECTED) (Vista de utilizador detalhado do GeneXpert Dx)

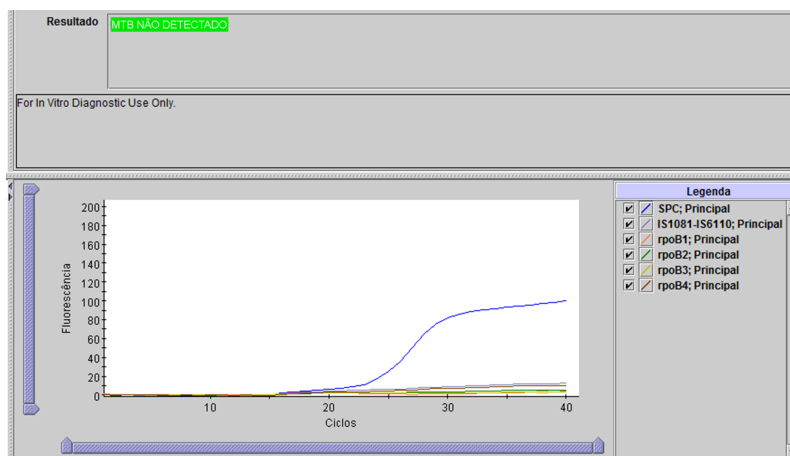


Figura 9. MTB NÃO DETETADO (MTB NOT DETECTED) (Vista de utilizador detalhada do GeneXpert Dx)

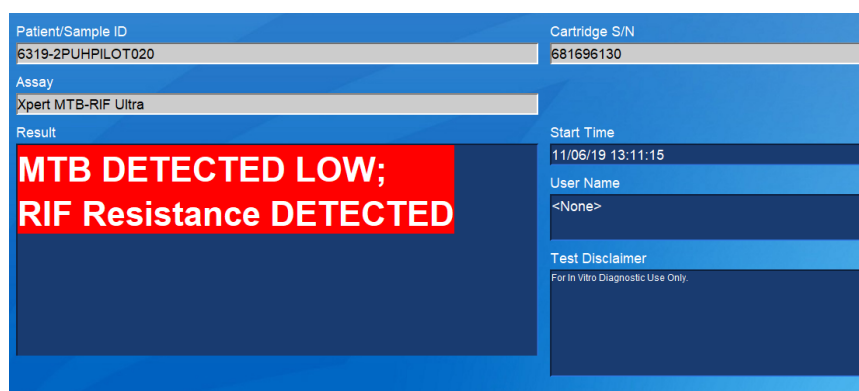


Figura 10. DETETADO MTB BAIXO, DETETADA Resistência à RIF (MTB DETECTED LOW; RIF Resistance DETECTED) (GeneXpert Edge)

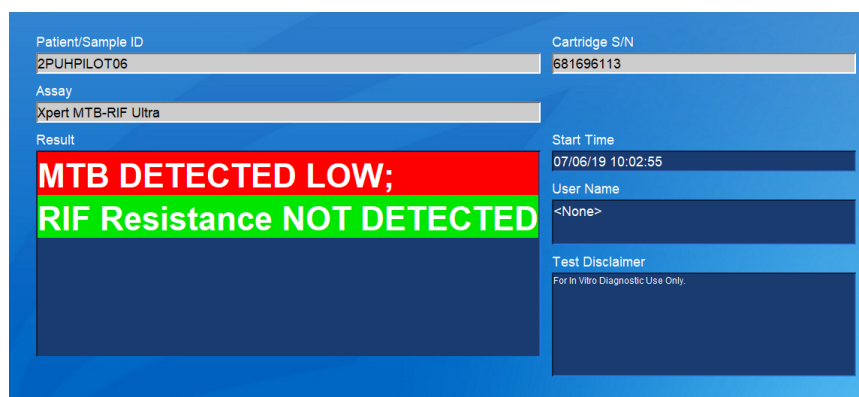


Figura 11. DETETADO MTB BAIXO; NÃO DETETADA Resistência à RIF (MTB DETECTED LOW; RIF Resistance NOT DETECTED) (GeneXpert Edge)

Patient/Sample ID 2PUHPILOT05	Cartridge S/N 681696136
Assay Xpert MTB-RIF Ultra	
Result MTB NOT DETECTED	Start Time 24/05/19 10:39:43
	User Name <None>
	Test Disclaimer For In Vitro Diagnostic Use Only.

Figura 12. MTB NÃO DETETADO (MTB NOT DETECTED) (GeneXpert Edge)

Tabela 2. Resultados do teste Xpert MTB/RIF Ultra e sua interpretação

Resultado	Interpretação
DETETADO MTB ELEVADO; DETETADA Resistência à RIF (MTB DETECTED HIGH; RIF Resistance DETECTED)	<p>O alvo de MTB está presente dentro da amostra:</p> <ul style="list-style-type: none"> Foi detetada uma mutação na sequência-alvo do gene <i>rpoB</i>. SPC: NA (não aplicável). Não é necessário um sinal de SPC porque a amplificação de MTB pode competir com este controle. Verificação da sonda: APROVADO (PASS). Todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
DETETADO MTB MÉDIO; DETETADA Resistência à RIF (MTB DETECTED MEDIUM; RIF Resistance DETECTED)	
DETETADO MTB BAIXO, DETETADA Resistência à RIF (MTB DETECTED LOW; RIF Resistance DETECTED)	
DETETADO MTB MUITO BAIXO, DETETADA Resistência à RIF (MTB DETECTED VERY LOW; RIF Resistance DETECTED)	
DETETADO MTB ELEVADO, NÃO DETETADA Resistência à RIF (MTB DETECTED HIGH; RIF Resistance NOT DETECTED)	<p>O alvo de MTB está presente dentro da amostra:</p> <ul style="list-style-type: none"> Não foi detetada qualquer mutação na sequência-alvo do gene <i>rpoB</i>. SPC: NA (não aplicável). Não é necessário um sinal de SPC porque a amplificação de MTB pode competir com este controle. Verificação da sonda: APROVADO (PASS). Todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
DETETADO MTB MÉDIO; NÃO DETETADA Resistência à RIF (MTB DETECTED MEDIUM; RIF Resistance NOT DETECTED)	

Resultado	Interpretação
DETETADO MTB BAIXO; NÃO DETETADA Resistência à RIF (MTB DETECTED LOW; RIF Resistance NOT DETECTED)	
DETETADO MTB MUITO BAIXO; NÃO DETETADA Resistência à RIF (MTB DETECTED VERY LOW; RIF Resistance NOT DETECTED)	
DETETADO MTB ELEVADO; resistência à RIF INDETERMINADA (MTB DETECTED HIGH; RIF Resistance INDETERMINATE)	<p>O alvo de MTB está presente dentro da amostra:</p> <ul style="list-style-type: none"> • A resistência à RIF não pode ser determinada devido a picos de fusão inválidos. • SPC: NA (não aplicável). Não é necessário um sinal de SPC porque a amplificação de MTB pode competir com este controlo. • Verificação da sonda: APROVADO (PASS). Todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
DETETADO MTB MÉDIO, resistência à RIF INDETERMINADA (MTB DETECTED MEDIUM; RIF Resistance INDETERMINATE)	
DETETADO MTB BAIXO, Resistência à RIF INDETERMINADA (MTB DETECTED LOW; RIF Resistance INDETERMINATE)	
DETETADO MTB MUITO BAIXO, resistência à RIF INDETERMINADA (MTB DETECTED VERY LOW; RIF Resistance INDETERMINATE)	
DETETADO MTB vestigial, resistência à RIF INDETERMINADA (MTB Trace DETECTED; RIF Resistance INDETERMINATE)	
MTB NÃO DETETADO (MTB NOT DETECTED)	<p>O alvo de MTB não é detetado dentro da amostra:</p> <ul style="list-style-type: none"> • SPC: APROVADO (PASS). O SPC preenche os critérios de aceitação. • Verificação da sonda: APROVADO (PASS). Todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.

Resultado	Interpretação
INVÁLIDO (INVALID)	<p>Não foi possível determinar a presença ou ausência do MTB. O SPC não cumpre os critérios de aceitação, a amostra não foi processada adequadamente ou a PCR foi inibida. Repita o teste. Consulte a secção Procedimento de repetição do teste neste documento.</p> <ul style="list-style-type: none"> • MTB INVÁLIDA: (MTB INVALID:) Não foi possível determinar a presença ou ausência de ADN de MTB. • SPC: NÃO APROVADO (FAIL). O resultado do alvo de MTB é negativo e o Ct de SPC não se encontra dentro de um intervalo válido. • Verificação da sonda: APROVADO (PASS). Todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
ERRO (ERROR)	<p>Não foi possível determinar a presença ou ausência do MTB. Repita o teste. Consulte a secção Procedimento de repetição do teste neste documento.</p> <ul style="list-style-type: none"> • MTB: SEM RESULTADO (NO RESULT) • SPC: SEM RESULTADO (NO RESULT) • Verificação da sonda: NÃO APROVADO (FAIL). Todos ou um dos resultados da verificação da sonda falharam. <p>Nota Se a verificação da sonda foi aprovada, o erro é causado pela falha de um dos componentes do sistema.</p>
SEM RESULTADO (NO RESULT)	<p>Não foi possível determinar a presença ou ausência do MTB. Repita o teste. Consulte a secção Procedimento de repetição do teste neste documento. SEM RESULTADO (NO RESULT) indica que foram recolhidos dados insuficientes. Por exemplo, o utilizador parou um teste que estava a decorrer.</p> <ul style="list-style-type: none"> • MTB: SEM RESULTADO (NO RESULT) • SPC: SEM RESULTADO (NO RESULT) • Verificação da sonda: NA (Não Aplicável)

Tabela 3. Xpert MTB/RIF Ultra: Todos os resultados possíveis

Resultados de TB	Resultados de RIF
DETETADO MTB ELEVADO (MTB DETECTED HIGH)	DETETADA resistência à RIF (RIF Resistance DETECTED)
DETETADO MTB ELEVADO (MTB DETECTED HIGH)	NÃO DETETADA resistência à RIF (RIF Resistance NOT DETECTED)
DETETADO MTB ELEVADO (MTB DETECTED HIGH)	Resistência à RIF INDETERMINADA (RIF Resistance INDETERMINATE)
DETETADO MTB MÉDIO (MTB DETECTED MEDIUM)	DETETADA resistência à RIF (RIF Resistance DETECTED)
DETETADO MTB MÉDIO (MTB DETECTED MEDIUM)	NÃO DETETADA resistência à RIF (RIF Resistance NOT DETECTED)
DETETADO MTB MÉDIO (MTB DETECTED MEDIUM)	Resistência à RIF INDETERMINADA (RIF Resistance INDETERMINATE)
DETETADO MTB BAIXO (MTB DETECTED LOW)	DETETADA resistência à RIF (RIF Resistance DETECTED)
DETETADO MTB BAIXO (MTB DETECTED LOW)	NÃO DETETADA resistência à RIF (RIF Resistance NOT DETECTED)
DETETADO MTB BAIXO (MTB DETECTED LOW)	Resistência à RIF INDETERMINADA (RIF Resistance INDETERMINATE)

Resultados de TB	Resultados de RIF
DETETADO MTB MUITO BAIXO (MTB DETECTED VERY LOW)	DETETADA resistência à RIF (RIF Resistance DETECTED)
DETETADO MTB MUITO BAIXO (MTB DETECTED VERY LOW)	NÃO DETETADA resistência à RIF (RIF Resistance NOT DETECTED)
DETETADO MTB MUITO BAIXO (MTB DETECTED VERY LOW)	Resistência à RIF INDETERMINADA (RIF Resistance INDETERMINATE)
MTB vestigial ^a DETETADO	Resistência à RIF INDETERMINADA (RIF Resistance INDETERMINATE)
MTB NÃO DETETADO (MTB NOT DETECTED)	
INVÁLIDO (INVALID)	
ERRO (ERROR)	
SEM RESULTADO (NO RESULT)	

^a Um resultado Vestigial (Trace) significa que são detetados níveis baixos de MTB, mas não foi detetado qualquer resultado de resistência à RIF. Tal acontece devido ao aumento de sensibilidade na deteção de TB utilizando alvos multicópia IS6110 e IS1081 por oposição à deteção da resistência à RIF utilizando o gene rpoB de cópia única. Portanto, um resultado de resistência ou suscetibilidade à RIF não pode ser determinado numa amostra Vestigial. Uma amostra Vestigial é sempre **Resistência à RIF INDETERMINADA (RIF Resistance INDETERMINATE)**.

13.1 Motivos para repetir o ensaio

Repetir o teste usando um novo cartucho se ocorrer um dos seguintes resultados do teste.

- Um resultado **INVÁLIDO (INVALID)** indica que o SPC falhou. A amostra não foi processada adequadamente ou a PCR foi inibida.
- Um resultado **ERRO (ERROR)** indica que o PCC falhou e que o ensaio foi abortado, possivelmente devido ao tubo de reação não ter sido adequadamente enchido, à deteção de um problema de integridade da sonda de reagente, a terem sido excedidos os limites de pressão máxima ou a falha de um módulo GeneXpert.
- **SEM RESULTADO (NO RESULT)** indica que foram recolhidos dados insuficientes. Por exemplo, o utilizador parou um teste que estava a decorrer.

13.2 Procedimento de repetição do teste

Se tiver expetoração recente ou sedimento reconstituído remanescente, use sempre SR novo para descontaminar e liquefazer a expetoração antes de efetuar o ensaio. Consulte a Secção 10 ou Procedimento para expetoração não processada.

Se tiver restado amostra tratada com SR em quantidade suficiente e tiverem decorrido menos de 4 horas desde a adição inicial de SR à amostra, pode usar a amostra remanescente para preparar e processar um novo cartucho. Quando repetir o teste, utilize sempre um cartucho novo e inicie o teste de imediato. Ver Secção 10.3.

14 Limitações

Como a deteção de MTB depende do número de organismos presentes na amostra, os resultados fidedignos dependem da correta colheita, manuseamento e conservação da amostra. Podem ocorrer resultados de teste errados devido a colheita de amostra, manuseamento e conservação incorretos, erro técnico, troca de amostras ou porque a concentração no material inicial era insuficiente. Para se evitarem resultados erróneos, é necessário cumprir cuidadosamente as instruções de utilização.

Estes indivíduos com resultados de **DETETADO MTB vestigial (MTB Trace DETECTED)** podem necessitar de mais informação clínica e consideração acerca do seu contexto clínico para decisões de tratamento da TB que são tomadas em determinadas situações.

Um resultado positivo do teste não indica necessariamente a presença de microrganismos viáveis. Contudo, presume-se a presença de MTB e de resistência à rifampicina.

Mutações ou polimorfismos nas regiões de ligação do primer ou da sonda podem afetar a detecção de estirpes novas ou desconhecidas de MDR-MTB ou resistentes à rifampicina, originando resultados falsos de sensibilidade à rifampicina.

O desempenho do teste Xpert MTB/RIF Ultra não foi avaliado em doentes com idade inferior a dezoito anos.

O teste Xpert MTB/RIF Ultra não confirma a suscetibilidade à rifampicina, pois podem existir mecanismos de resistência à rifampicina para além dos detetados por este dispositivo, os quais podem estar associados à falta de resposta clínica ao tratamento.

As amostras que contenham ADN do complexo MTB e mutações do gene *rpoB* associadas à resistência à rifampicina detetados pelo teste Xpert MTB/RIF Ultra devem ser consideradas para testes adicionais de suscetibilidade a fármacos.

O desempenho do teste Xpert MTB/RIF Ultra está dependente da proficiência e adesão do operador aos procedimentos do ensaio. Os erros do procedimento do ensaio podem provocar resultados falsos-positivos ou falsos-negativos. Todos os operadores do dispositivo devem ter formação adequada para utilização do dispositivo.

15 Desempenho clínico

15.1 Desenho do estudo clínico

As características do desempenho do ensaio Xpert MTB/RIF Ultra foram avaliadas quanto à detecção de ADN do complexo MTB e à detecção de mutações associadas à resistência à RIF, em amostras de expetoração, relativamente aos resultados de cultura (em meio sólido e/ou líquido) e ao teste de suscetibilidade a fármacos (DST), respetivamente. Este estudo multicêntrico utilizou amostras prospetivas e arquivadas de expetoração (em estado natural) direta ou de sedimento concentrado de participantes com idade igual ou superior a 18 anos. Os participantes incluíam doentes com suspeita de TB pulmonar sem tratamento para a TB ou com menos de 3 dias de tratamento nos 6 meses anteriores ao início do estudo (suspeita de TB), bem como participantes anteriormente tratados para TB com suspeita de TB multirresistente a fármacos (suspeita de MDR-TB). O estudo foi realizado a nível mundial (Alemanha, África do Sul, Bielorrússia, Brasil, China, EUA, Geórgia, Índia, Itália, Peru, Quênia, Uganda e Vietname). A sensibilidade e a especificidade do ensaio Xpert MTB/RIF Ultra para a detecção de MTB foram avaliadas utilizando dados apenas dos pacientes com suspeita de TB; ao passo que os dados de pacientes com suspeita de MDR-TB foram combinados para avaliar o desempenho da detecção da resistência à RIF.

As amostras foram colhidas de participantes do estudo, 61% (n = 1111) do sexo masculino e 35% (n = 648) do sexo feminino; para 4% (n = 76) o sexo era desconhecido. Pertenciam a regiões geograficamente diversas: 12% (n = 217) eram dos EUA (Califórnia, Nova Iorque e Flórida) e 88% (n = 1618) eram de outros países (Bielorrússia, Brasil, China, Geórgia, Alemanha, Índia, Itália, África do Sul, Quênia, Peru, Vietname e Uganda). Das 1835 amostras, 1228 foram colhidas prospetivamente e 607 provinham de bancos de amostras arquivadas e congeladas.

15.2 Desempenho do teste Xpert MTB/RIF Ultra vs. cultura de MTB

Foram colhidas até três amostras de expetoração de cada participante do estudo para utilização no estudo clínico. Para as amostras prospetivas, a primeira amostra de expetoração foi testada com o teste Xpert MTB/RIF Ultra e as outras duas amostras foram utilizadas para cultura de TB. Para as amostras arquivadas, estavam disponíveis os resultados das culturas do método de cuidados normais e o teste Xpert MTB/RIF Ultra foi efetuado utilizando a primeira amostra com volume suficiente. Se o resultado do teste fosse não determinado (ou seja, **ERRO (ERROR)**, **INVÁLIDO (INVALID)** ou **SEM RESULTADO (NO RESULT)**), este era repetido na mesma amostra caso existisse volume suficiente. Globalmente, 1,0% das amostras testadas de participantes elegíveis (19/1854; IC de 95%: 0,7, 1,6) foi indeterminado. Para cada participante, a demonstração de bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR) foi efetuada através da coloração de auramina-O (AO) (fluorescência) ou de Ziehl-Neelsen (ZN) de esfregaços da amostra com o resultado correspondente do teste Xpert MTB/RIF Ultra. O estado da cultura de MTB para todos os participantes foi definido com base nos resultados da cultura de MTB de todas as amostras colhidas num período de sete dias para cada participante.

O desempenho do teste Xpert MTB/RIF Ultra para a detecção do MTB relativamente à cultura do MTB, estratificado segundo o estado do esfregaço de BAAR é apresentado na tabela abaixo. A sensibilidade em amostras com esfregaços positivos e negativos foi de 99,5% (426/428), IC de 95%: 98,3; 99,9 e de 73,3% (200/273), IC de 95%: 67,7; 78,2, respetivamente. A especificidade global do teste Xpert MTB/RIF Ultra, independentemente dos resultados do esfregaço de BAAR, foi de 95,5% (1222/1280), IC de 95%: 94,2; 96,5. Ver tabelas abaixo.

Tabela 4. Desempenho do teste Xpert MTB/RIF Ultra vs. cultura de MTB

		Esfregaço/Cultura				Total
		Positivo			Negativo	
		Esfregaço BAAR +	Esfregaço BAAR -	Cultura global +	Cultura global -	
Xpert MTB/ RIF Ultra	MTB DETETADO (MTB DETECTED)	426	200	630 ^a	58	688
	MTB NÃO DETETADO (MTB NOT DETECTED)	2	73	75	1222	1297
	Total	428	273	705	1280	1985

Desempenho em esfregaços positivos: Sensibilidade: 99,5% (426/428), IC de 95%: 98,3; 99,9
Desempenho em esfregaços negativos: Sensibilidade: 73,3% (200/273), IC de 95%: 67,7; 78,2
Desempenho global: Sensibilidade: 89,4% (630/705), IC de 95%: 86,9; 91,4
Especificidade: 95,5% (1222/1280), IC de 95%: 94,2; 96,5

^a Não estavam disponíveis resultados do esfregaço para 4 amostras com cultura positiva.

O desempenho do teste Xpert MTB/RIF Ultra para a detecção de MTB foi determinado relativamente à cultura de MTB, estratificado segundo centros fora dos EUA vs. nos EUA, conforme mostrado na tabela abaixo. Entre as 1985 amostras, 1768 amostras eram de centros fora dos EUA e 217 eram de centros nos EUA.

Tabela 5. Teste Xpert MTB/RIF Ultra vs. cultura de MTB por centros fora dos EUA vs. nos EUA

	Fora dos EUA		EUA	
	N	Percentagem (IC de 95%)	N	Percentagem (IC de 95%)
Sensibilidade esfregaço Pos	380/382	99,5% (98,1; 99,9)	46/46	100,0% (92,3; 100)
Sensibilidade esfregaço Neg	180/245	73,5% (67,6; 78,6)	20/28	71,4% (52,9; 84,7)
Sensibilidade global	564/631 ^a	89,4% (86,7; 91,6)	66/74	89,2% (80,1; 94,4)
Especificidade global	1080/1137	95,0% (93,6; 96,1)	142/143	99,3% (96,1; 99,9)

^a Não estavam disponíveis resultados do esfregaço para 4 amostras com cultura positiva.

15.3 Desempenho do teste Xpert MTB/RIF Ultra vs. cultura por tipo de esfregaço

O desempenho do teste Xpert MTB/RIF Ultra para a detecção de MTB foi determinado relativamente à cultura de MTB em amostras com esfregaço de BAAR efetuado pelo método AO e ZN. Os resultados são apresentados na tabela a seguir. Entre as 1985 amostras, existiam 1810 amostras com esfregaços AO e 175 com esfregaços ZN.

Tabela 6. Desempenho do teste Xpert MTB/RIF Ultra vs. cultura de MTB segundo os métodos de coloração da auramina O (AO) e de Ziehl-Neelsen (ZN)

	Método da Auramina O		Método de Ziehl-Neelsen	
	N	Percentagem (IC de 95%)	N	Percentagem (IC de 95%)
Sensibilidade esfregaço Pos	386/388	99,5% (98,1; 99,9)	40/40	100% (91,2; 100)
Sensibilidade esfregaço Neg	153/219	69,9% (63,5; 75,6)	47/54	87,0% (75,6; 93,6)
Sensibilidade global	543/611 ^a	88,9% (86,1; 91,1)	87/94	92,6% (85,4; 96,3)
Especificidade global	1145/1199	95,5% (94,2; 96,5)	77/81	95,1% (88,0; 98,1)

^a Não estavam disponíveis resultados do esfregaço para 4 amostras com cultura positiva.

15.4 Desempenho do teste Xpert MTB/RIF Ultra vs. cultura por tipo de amostra

O desempenho do teste Xpert MTB/RIF Ultra para a detecção de MTB foi determinado relativamente à cultura de MTB em amostras de expetoração não processadas e em amostras de sedimento de expetoração concentrado. Os resultados são apresentados na tabela a seguir. Entre as 1985 amostras, existiam 1543 amostras de expetoração não processadas e 442 amostras de sedimento de expetoração concentrado.

Tabela 7. Teste Xpert MTB/RIF Ultra vs. cultura de MTB por tipo de amostra

	Expetoração direta		Sedimentos de expetoração	
	N	% (IC de 95%)	N	% (IC de 95%)
Sensibilidade esfregaço Pos	323/324	99,7% (98,3; 99,9)	103/104	99,0% (94,8; 99,8)
Sensibilidade esfregaço Neg	168/229	73,4% (67,3; 78,7)	32/44	72,7% (58,2; 83,7)
Sensibilidade global	495/557 ^a	88,9% (86,0; 91,2)	135/148	91,2% (85,6; 94,8)
Especificidade global	937/986	95,0% (93,5; 96,2)	285/294	96,9% (94,3; 98,4)

^a Não estavam disponíveis resultados do esfregaço para 4 amostras com cultura positiva.

15.5 Desempenho do teste Xpert MTB/RIF Ultra vs. teste de suscetibilidade a fármacos para a RIF

Os isolados de cultura de MTB positivos foram testados relativamente à suscetibilidade a fármacos (DST) para a rifampicina utilizando o método de proporções em ágar com meios Middlebrook ou Lowenstein-Jensen, a placa MIC para *Mycobacterium tuberculosis* da Thermo Scientific Sensititre™ ou o ensaio BD BACTEC™ MGIT™ 960 SIRE. O desempenho do teste Xpert MTB/RIF Ultra para a deteção de mutações associadas à resistência à RIF foi determinado relativamente aos resultados do TSA dos isolados de culturas de MTB.

Os resultados para a deteção de mutações associadas à resistência à RIF são reportados pelo teste Xpert MTB/RIF Ultra apenas quando a sequência do gene *rpoB* do complexo MTB é detetada pelo dispositivo. O desempenho da suscetibilidade/resistência à RIF é apresentado na tabela abaixo. As amostras com TSA não efetuado, **MTB NÃO DETETADO (MTB NOT DETECTED e DETECTADO MTB; Resistência à RIF INDETERMINADA (MTB DETECTED; RIF Resistance INDETERMINATE))** foram excluídas da análise. Sessenta e três (63) das 67 amostras com resultados indeterminados para a RIF eram **MTB vestigial DETETADO; Resistência à RIF INDETERMINADA (MTB Trace DETECTED; RIF Resistance INDETERMINATE)**.

Tabela 8. Desempenho do teste Xpert MTB/RIF Ultra vs. DST

Teste de suscetibilidade a fármacos				
		Resistente à RIF	Suscetível à RIF	Total
Xpert MTB/ RIF Ultra	MTB DETETADO; Resistência à RIF DETETADA (MTB DETECTED, RIF Resistance DETECTED)	128	12 ^a	140
	MTB DETETADO; Resistência à RIF NÃO DETETADA (MTB DETECTED; RIF Resistance NOT DETECTED)	5 ^b	314	319
	Total	133	326	459
		Sensibilidade: 96,2% (128/133), IC de 95%: 91,5, 98,4 Especificidade: 96,3% (314/326), IC de 95%: 93,7, 97,9		

^a Resultados da sequenciação discrepantes: 11 de 12 resistentes à RIF; 1 de 12 não disponível.

^b Resultados da sequenciação discrepantes: 4 de 5 suscetíveis à RIF; 1 de 5 não disponível.

15.6 Desempenho do teste Xpert MTB/RIF Ultra vs. Xpert MTB/RIF Assay

Mil e quinhentas e noventa e quatro (1594) amostras foram testadas com o teste Xpert MTB/RIF Ultra e o ensaio Xpert MTB/RIF. A percentagem global de concordância entre os ensaios foi de 96,5% [(1538/1594), IC de 95%: 95,5; 97,3]. A percentagem de concordância positiva e a percentagem de concordância negativa foi de 99,2% [(491/495) IC de 95%: 97,9; 99,7] e 95,3% [(1047/1099) IC de 95%: 93,8; 96,4], respetivamente.

15.7 Reprodutibilidade

A reprodutibilidade do ensaio Xpert MTB/RIF Ultra foi avaliada em três locais utilizando um painel de amostras composto por estirpes de MTB suscetíveis e resistentes à rifampicina. As amostras positivas para MTB foram preparadas numa matriz de expetoração simulada com concentrações baixas (~1X LoD) e moderadas (2-3X LoD). Foi igualmente incluído um membro negativo do painel que consistia de matriz de expetoração simulada. Foi testado um painel de cinco amostras em seis dias diferentes por dois operadores diferentes, duas vezes por dia em cada um dos três locais (240 testes em cada local = 2 operadores x 6 dias x 2 réplicas x 2 execuções por dia). Foram utilizados três lotes do kit de reagentes dos ensaios Xpert MTB/RIF Ultra no estudo. A concordância percentual para cada membro do painel é apresentada por local na Tabela 9.

**Tabela 9. Resumo dos resultados de reprodutibilidade
— concordância por local/instrumento do estudo**

Amostra	Local 1 (GeneXpert Dx)	Local 2 (GeneXpert Dx)	Local 3 (Infinity-90)	% de concordância total por amostra
Negativo	98% (47/48)	100% (48/48)	100% (48/48)	99,3% (143/144)
MTB Positivo baixo, Resistente à RIF	96% (46/48)	96% (46/48)	98% (47/48)	96,5% (139/144)
MTB Positivo moderado, Resistente à RIF	100% (48/48)	100% (48/48)	100% (48/48)	100% (144/144)
MTB Positivo baixo, Sensível à RIF	100% (48/48)	100% (48/48)	98% (47/48)	99,3% (143/144)
MTB Positivo moderado, Sensível à RIF	100% (47/47)	100% (48/48)	100% (48/48)	100% (143/143)

A reprodutibilidade do ensaio Xpert MTB/RIF Ultra também foi avaliada em termos do sinal de fluorescência expresso em valores-limite de ciclos (Ct) para cada alvo detetado. A média, o desvio padrão (DP) e o coeficiente de variação (CV) entre locais, entre dias, entre operadores e nos componentes de intra-execução para cada membro do painel são apresentados na Tabela 10. Uma execução é definida como as quatro amostras por elemento de painel testadas por um profissional, num local e num dia.

16 Características do desempenho analítico

Tabela 10. Resumo dos dados de reprodutibilidade

Amostra	N	Ct médio	Variância												
			Entre locais		Entre lotes		Entre dias		Entre operadores		Intra-execução/ teste		Total		
			DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	
Negativo	SPCCt	144	25,7	0,00	0,0	0,30	1,1	0,00	0,0	0,70	2,8	1,40	5,5	1,60	6,3
MTB Positivo baixo, Resistente à RIF	ICCT	144	20,0	0,00	0,0	0,20	1,1	0,00	0,0	0,40	2,0	0,90	4,6	1,00	5,1
	rpo1C	141	31,0	0,00	0,0	0,50	1,6	0,00	0,0	0,60	2,0	2,20	7,2	2,40	7,7
	rpo2C	141	29,8	0,20	0,7	0,40	1,4	0,00	0,0	0,80	2,5	2,10	7,1	2,30	7,7
	rpo3C	139	33,8	0,20	0,6	0,60	1,9	0,00	0,0	0,70	2,0	2,00	5,9	0,20	6,5
	rpo4C	141	30,4	0,80	2,5	0,50	1,7	0,00	0,0	0,80	2,5	2,50	8,4	2,80	9,2
MTB Positivo moderado, Resistente à RIF	ICCT	144	18,4	0,30	1,4	0,00	0,0	0,10	0,5	0,10	0,3	0,70	3,7	0,80	4,1
	rpo1C	143	28,3	0,40	1,5	0,00	0,0	0,50	1,8	0,00	0,0	1,80	6,4	1,90	6,8
	rpo2C	144	27,2	0,50	1,8	0,00	0,0	0,50	1,8	0,00	0,0	1,80	6,7	1,90	7,1
	rpo3C	143	31,1	0,10	0,4	0,00	0,0	0,50	1,6	0,00	0,0	1,70	5,6	1,80	5,8
	rpo4C	144	27,2	0,80	3,1	0,00	0,0	0,70	2,4	0,00	0,0	2,20	8,0	2,40	8,9
MTB Positivo baixo, Sensível à RIF	ICCT	143	23,7	0,00	0,0	0,20	0,6	0,40	1,6	0,00	0,0	1,70	7,4	1,80	7,6
	rpo1C	130	30,2	0,10	0,3	0,00	0,0	0,90	3,0	0,00	0,0	2,60	8,4	2,70	9,0
	rpo2C	130	29,3	0,00	0,0	0,00	0,0	0,80	2,6	0,00	0,0	2,40	8,1	2,50	8,5

Amostra	N	Ct médio	Variância												
			Entre locais		Entre lotes		Entre dias		Entre operadores		Intra-execução/ teste		Total		
			DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	
	rpo3C	130	31,5	0,00	0,0	0,00	0,0	0,80	2,6	0,20	0,7	2,30	7,4	2,50	7,8
	rpo4C	120	36,1	0,30	0,9	0,40	1,1	0,00	0,0	0,50	1,4	2,10	5,7	2,20	6,1
MTB Positivo moderado, Sensível à RIF	ICct	143	21,8	0,10	0,6	0,00	0,0	0,20	1,1	0,00	0,0	1,20	5,4	1,20	5,5
	rpo1C	142	27,6	0,20	0,7	0,00	0,0	0,30	1,2	0,00	0,0	2,00	7,2	2,00	7,3
	rpo2C	141	26,7	0,00	0,0	0,40	1,4	0,00	0,0	0,10	0,2	1,60	5,9	1,60	6,1
	rpo3C	141	28,9	0,00	0,0	0,30	1,1	0,00	0,0	0,50	1,7	1,70	5,7	1,70	6,0
	rpo4C	140	33,9	0,70	2,0	0,60	1,7	0,00	0,0	0,00	0,0	2,00	5,9	2,20	6,5

16.1 Substâncias interferentes

Foi efetuado um estudo com matriz de expetoração artificial para avaliar os efeitos de substâncias potencialmente interferentes com o teste Xpert MTB/RIF Ultra. Foi avaliado um total de 32 substâncias potencialmente interferentes. As substâncias endógenas potencialmente interferentes podem incluir, entre outras, sangue, pus (leucócitos), células do trato respiratório, mucina, ADN humano e ácido gástrico proveniente do estômago. Outras substâncias potencialmente interferentes podem incluir anestésicos, antibióticos, antibacterianos, fármacos antituberculose, antivirais, broncodilatadores, broncodilatadores inalados, vacina intranasal viva do vírus da gripe, elixir bucal germicida, reagentes de processamento de amostras, medicação para *Pneumocystis jirovecigi*, medicações homeopáticas de alívio de alergias, corticosteroides nasais, geles nasais, sprays nasais, anestésicos orais, expetorantes orais, tampões neutralizantes e o tabaco. Estas substâncias estão discriminadas na Tabela 11, com indicação dos princípios ativos e concentrações testadas. Foram incluídas no estudo amostras positivas e negativas. As amostras positivas foram testadas perto de 3 vezes o limite de deteção analítico utilizando células de BCG em réplicas de 8. As amostras negativas, compostas pela substância ausente da estirpe do MTB, foram testadas por substância em réplicas de 8 para determinar o efeito no desempenho do controlo de processamento da amostra (SPC).

Não foram observados efeitos inibitórios para qualquer das 32 substâncias potencialmente interferentes testadas (Tabela 11).

Tabela 11. Substâncias interferentes

Substância	Descrição/Substância ativa	Concentração testada
Sangue	Sangue (humano)	5% (v/v)
Elixir bucal germicida	Gluconato de clorexidina (0,12%), solução a 20%	20% (v/v)
Reagentes de processamento de amostras	Cloreto de cetilpiridínio, 1% em NaCl a 2%	0,5% (v/v) em NaCl a 1%
Reagentes de processamento de amostras	Cloreto de cetilpiridínio, 1% em NALC a 2%	0,5% (v/v) em 1% NALC
Reagentes de processamento de amostras	Cloreto de cetilpiridínio, 1% em 2% NALC mais citrato 25 mM	0,5% (v/v) em 1% NALC mais 12,5 mM citrato
Ácido gástrico	Solução de pH 3 a 4 em água, neutralizada com bicarbonato de sódio	100% (v/v)
ADN/células humanas	HELA 229	10 ⁶ células/ml
Antimicótico; antibiótico	Suspensão oral de nistatina, 20%	20% (v/v)
Leucócitos (humanos)	Matriz de leucócitos/pus (30% de camada leucoplaquetária, 30% de plasma, 40% de PBS)	100% (v/v)

Substância	Descrição/Substância ativa	Concentração testada
Anestésicos (entubação endotraqueal)	Cloridrato de lidocaína a 4%	30% (v/v)
Soluções nebulizantes	NaCl a 5% (p/v)	5% (p/v)
Mucina	Mucina a 5% (p/v)	5% (p/v)
Antibacteriano, sistêmico	Levofloxacina a 25 mg/ml	5 mg/ml (p/v)
Corticosteroides nasais	Fluticasona a 500 mcg/spray	5 µg/ml (p/v)
Broncodilatadores inalados	Sulfato de albuterol a 2,5 mg/3 ml	75 µg/ml (p/v)
Anestésicos orais	Orajel (benzocaína a 20%)	5% (p/v)
Fármacos antivirais	Aciclovir, IV 50 mg/ml	50 µg/ml (p/v)
Antibiótico, pomada nasal	Neosporin (400 U bacitracina, 3,5 mg neomicina, 5000 U polimixina B)	5% (p/v)
Tabaco	Nicogel (extrato de tabaco a 40%)	0,5% (p/v)
Fármacos antituberculose	Estreptomina 1 mg/ml	25 µg/ml (p/v)
Fármacos antituberculose	Etambutol 1 mg/ml	50 µg/ml (p/v)
Fármacos antituberculose	Isoniazida 1 mg/ml	50 µg/ml (p/v)
Expetorantes orais	Guaifenesina (400 mg/comprimido)	5 mg/ml (p/v)
Fármacos antituberculose	Pirazinamida 10 mg/ml	10 µg/ml (p/v)
Gel nasal (homeopático)	Gel Zicam	50% (p/v)
Spray nasal	Fenilefrina 0,5%	1% (p/v)
Fármacos antituberculose	Rifampicina 1 mg/ml	25 µg/ml (p/v)
Analgésico para a alergia (homeopático)	Óleo de melaleuca (<5% Cineole, >35% de Terpineno-4-ol)	0,5% (p/v)
Vacina intranasal viva do vírus da gripe	Vacina viva do vírus da gripe FluMist	5% (p/v)
Medicação para <i>Pneumocystis jiroveci</i>	Pentamidina	300 ng/ml (p/v)
Broncodilatador	Epinefrina (fórmula injetável)	1 mg/ml (p/v)
Fármacos antituberculose	Amoxicilina	25 µg/ml (p/v)

16.2 Sensibilidade analítica (limite de detecção)

Foram realizados estudos para determinar a sensibilidade analítica ou o limite de detecção (LoD) do teste Xpert MTB/RIF Ultra utilizando a estirpe H37Rv do *Mycobacterium tuberculosis* e BCG (Bacilo de Calmette-Guerin) de *Mycobacterium bovis* diluídos em expetoração humana e sedimento de expetoração humana. Um resultado positivo para MTB baseia-se na detecção dos alvos IS1081/IS6110.

Foram igualmente efetuados estudos para determinar a sensibilidade analítica ou o limite de detecção do teste Xpert MTB/RIF Ultra para a detecção de resistência à RIF, utilizando uma estirpe clínica bem caracterizada de *Mycobacterium tuberculosis* resistente à rifampicina (TDR125) portadora de uma mutação D516V na região "core" de 81 pares de bases do gene rpoB diluída em expetoração humana e sedimento de expetoração humana.

O LoD é a concentração mais baixa reportada em UFC/ml que pode ser distinguida de forma reprodutível a partir de amostras negativas com 95% de confiança. Foram avaliadas réplicas de, pelo menos, 20 para duas estirpes entre cinco e oito concentrações ao longo de 3 dias e o LoD foi determinado recorrendo à análise probit. Os LoD alegados estão resumidos na tabela a seguir.

Tabela 12. Dados da análise probit e LoD alegados em UFC/ml

Espécies de Mycobacteria	Tipo de amostra	LoD alegado
<i>M. bovis</i> (BCG)	Expetoração	30
	Sedimento de expetoração	21
<i>M. tuberculosis</i> (H37Rv)	Expetoração	12
	Sedimento de expetoração	25

Tabela 13. Dados da análise probit e LoD alegados da resistência à RIF em UFC/ml

Espécies de Mycobacteria	Tipo de amostra	LoD alegado
<i>M. tuberculosis</i> (TDR125)	Expetoração	1093
	Sedimento de expetoração	4000

16.3 Especificidade analítica (exclusividade)

Foram testadas culturas de 30 estirpes de micobactérias não tuberculosas (MNT) com o ensaio Xpert MTB/RIF Ultra. Três réplicas de cada isolado foram contaminadas em tampão e testadas a uma concentração $\geq 10^7$ UFC/ml. Ver Tabela 14.

Tabela 14. Estirpes MNT testadas quanto à especificidade

<i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>avium</i>	<i>Mycobacterium scrofulaceum</i>
<i>Mycobacterium celatum</i>	<i>Mycobacterium simiae</i>
<i>Mycobacterium chelonae</i>	<i>Mycobacterium szulgai</i>
<i>Mycobacterium gordonae</i>	<i>Mycobacterium thermoresistibile</i>
<i>Mycobacterium haemophilum</i>	<i>Mycobacterium triviale</i>
<i>Mycobacterium abscessus</i>	<i>Mycobacterium vaccae</i>
<i>Mycobacterium asiaticum</i>	<i>Mycobacterium xenopi</i>
<i>Mycobacterium flavescens</i>	<i>Mycobacterium smegmatis</i>
<i>Mycobacterium fortuitum</i> subsp. <i>fortuitum</i>	<i>Mycobacterium interjectum</i>
<i>Mycobacterium gastri</i>	<i>Mycobacterium peregrinum</i>
<i>Mycobacterium genavense</i>	<i>Mycobacterium mucogenicum</i>
<i>Mycobacterium intracellulare</i>	<i>Mycobacterium goodii</i>
<i>Mycobacterium kansasii</i>	<i>Mycobacterium shimoidei</i>
<i>Mycobacterium malmoense</i>	<i>Mycobacterium phlei</i>
<i>Mycobacterium marinum</i>	<i>Mycobacterium terrae</i>

Nas condições do estudo, todos os isolados de MNT foram reportados como sendo **MTB NÃO DETETADO (MTB NOT DETECTED)**. Foram incluídos no estudo controlos positivos e negativos. A especificidade era de 100%.

Adicionalmente, de modo a determinar se concentrações elevadas de MNT interfeririam com a deteção de níveis baixos (3X LoD) de TB, seis estirpes representativas das estirpes indicadas na Tabela 14 foram misturadas com a estirpe de TB H37Rv e com *M. bovis* em expectoração de modo a obter uma concentração final de 10⁶ UFC/ml de MNT e de 36 UFC/ml de *M. tuberculosis* H37Rv e de 90 UFC/ml de *M. bovis*, respetivamente.

As estirpes de MNT testadas relativamente à capacidade de interferir com a TB (H37Rv) detetada incluíam:

- *M. abscessus*, ATCC 19977
- *M. avium*, isolados clínicos do National Jewish Hospital
- *M. celatum*, isolados clínicos do National Jewish Hospital
- *M. kansasii*, ATCC 12478
- *M. goodii*, ATCC 14470
- *M. intracellulare*, isolados clínicos do National Jewish Hospital

As estirpes de MNT testadas não interferiram com a deteção de 36 UFC/ml de *M. tuberculosis* (H37Rv) ou de 90 UFC/ml de *M. bovis*; assim, os sinais foram idênticos aos obtidos quando a estirpe H37Rv foi testada isoladamente.

16.4 Espécies/estirpes testadas quanto à especificidade

Os microrganismos que se seguem, incluindo bactérias Gram-negativo, bactérias Gram-positivo, fungos, vírus e leveduras, foram testados relativamente a falsos positivos no teste Xpert MTB/RIF Ultra. Foram utilizadas réplicas de cada isolado para contaminar uma solução tampão e testadas com uma concentração $\geq 10^7$ UFC/ml (estirpes de bactérias e fungos) ou $\geq 10^6$ cópias/ml (ADN genómico de bactérias e fungos) e $\geq 10^5$ TCID₅₀/ml (estirpes de vírus).

Tabela 15. Espécies e estirpes

<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Vírus sincial respiratório tipo B
<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	Rinovírus
<i>Candida albicans</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	<i>Neisseria mucosa</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Nocardia asteroides</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Corynebacterium xerosis</i>	Vírus Parainfluenza tipo 1	<i>Streptococcus agalactiae</i>
Coronavírus	Vírus Parainfluenza tipo 2	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	Vírus Parainfluenza tipo 3	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	Vírus sincial respiratório tipo A	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Metapneumovírus humano (hMPV) 16 Tipo A1</i>		

Nas condições do estudo, todos os microrganismos testados foram reportados como sendo **MTB NÃO DETETADO (MTB NOT DETECTED)**. Foram incluídos no estudo controlos positivos e negativos. A especificidade era de 100%.

16.5 Inclusividade analítica

Foram testadas trinta e sete estirpes de complexo MTB consistindo em 16 estirpes suscetíveis à rifampicina com uma região "core" do *rpoB* do tipo selvagem e 21 estirpes resistentes à rifampicina com o ensaio Xpert MTB/RIF Ultra. Foram testadas amostras de ADN de um total de 37 estirpes de MTB no GeneXpert, utilizando um protocolo Xpert MTB/RIF Ultra modificado para testar ADN. Os componentes da reação final e as condições dos ciclos de PCR não foram alterados em relação ao protocolo concebido para testar amostras de doentes. Doze das estirpes eram da coleção da OMS/TDR e 6 da coleção do laboratório da Rutgers University. No seu conjunto, estas estirpes representam isolados de 8 países e continham 21 isolados resistentes à RIF compostos por mutações únicas, duplas e uma tripla na região "core" do *rpoB*. As amostras foram testadas adicionando 100 µl de amostra de ADN à câmara do lisado do cartucho. As reações negativas

utilizaram tampão como amostra. O teste identificou corretamente todas as 16 estirpes selvagens e identificou corretamente a resistência à rifampicina em 18 das 21 estirpes resistentes à rifampicina com mutações na região "core" do *rpoB*. Foram obtidos resultados indeterminados para a rifampicina em 3 das estirpes mutantes. *M. caprae* e *M. pinnipedii* não foram avaliados como parte deste estudo.

16.6 Inativação analítica de micobactérias em amostras de expetoração

A capacidade de desinfecção do reagente de amostra Xpert MTB/RIF Ultra foi determinada usando um método de cultura tuberculicida quantitativo padronizado.¹² As amostras de expetoração foram contaminadas com uma concentração elevada de microrganismos *M. bovis* viáveis, misturadas com o reagente de amostra numa proporção de 2:1 e incubadas durante 15 minutos. Após a incubação a mistura reagente de amostra/expetoração foi neutralizada por diluição e filtração sendo, de seguida, efetuada a cultura. A viabilidade dos microrganismos *M. bovis* provenientes de expetoração tratada foi reduzida em, pelo menos, 6 log em comparação com o controlo não tratado.

Cada laboratório deve determinar a eficácia das propriedades desinfetantes do reagente de amostra, usando os seus métodos padronizados e deve cumprir os regulamentos sobre biossegurança recomendados.

17 Referências

1. Relatório da OMS de 2018. <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/274453/9789241565646-eng.pdf?ua=1>.
2. Relatório global sobre TB da OMS de 2019. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/329368/9789241565714-eng.pdf>.
3. Resistência anti-tuberculose no mundo: quarto relatório global. WHO/HTM/TB/2008.394.
4. Morris SL, Bai GH, Suffys P, Portillo-Gomez L, Fairchok M, Rouse D. Molecular mechanisms of multidrug resistance in clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Infect Dis*. 1995. 171:954-60.
5. Rattan A, Kalia A, Ahmad N. 1998. Multidrug-Resistant *Mycobacterium tuberculosis*: Molecular Perspectives, *Emerging Infectious Diseases*, Vol.4 No.2, <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol4no2/rattan.htm>.
6. Francis J. Curry National Tuberculosis Center and California Department of Public Health, 2008: Drug-Resistant Tuberculosis, A Survival Guide for Clinicians, Second Edition.
7. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. 1993. Richmond JY and McKinney RW (eds). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Guideline aprovada. Document M29 (consultar a edição mais recente).
9. REGULAMENTO (CE) N.º 1272/2008 DO PARLAMENTO EUROPEU E DO CONSELHO, de 16 de Dezembro de 2008, relativo à classificação, rotulagem e embalagem de substâncias e misturas, que altera e revoga a lista de recomendações de prudência, as Diretivas 67/548/CEE e 1999/45/CE, e altera o Regulamento (CE) n.º 1907/2006.
10. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazardous Substances (26 de março de 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpart Z).
11. Kent PT, Kubica GP. 1985. Public Health Mycobacteriology—*A Guide for Level III Laboratory*, Centers of Disease Control, Atlanta, Publication no. PB 86-216546.
12. Banada, P. et.al. Containment of Bioaerosol Infection Risk by the Xpert MTB/RIF Assay and Its Applicability to Point of Care Settings. *Journal of Clinical Microbiology*. 2010. 48:10. 3551-3557.

18 Locais das sedes da Cepheid

Sede empresarial

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Telefone: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Sede europeia

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Telefone: + 33 563 825 300
Fax: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

19 Assistência técnica

Antes de nos contactar

Antes de contactar a assistência técnica da Cepheid, reúna as seguintes informações:

- Nome do produto
- Número de lote
- Número de série do instrumento
- Mensagens de erro (se houver alguma)
- Versão de software e, caso se aplique, número de Etiqueta de serviço (Service Tag) do computador

Estados Unidos da América

Telefone: + 1 888 838 3222
E-mail: techsupport@cepheid.com



















França

Telefone: + 33 563 825 319
E-mail: support@cepheideurope.com

As informações de contacto de todos os escritórios da assistência técnica da Cepheid estão disponíveis no nosso website: www.cepheid.com/en/support/contact-us

Termos e Condições da Cepheid podem ser encontrados em www.cepheid.com/en/support/support/order-management.

20 Tabela de símbolos

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Não reutilizar
	Código de lote
	Consultar as instruções de utilização
	Cuidado
	Fabricante
	País de fabrico
	Conteúdo suficiente para n testes
	Controlo
	Prazo de validade
	Marcação CE — Conformidade Europeia
	Limites de temperatura
	Riscos biológicos
	Líquidos inflamáveis
	Corrosivo para a pele
	Toxicidade reprodutiva e em órgãos
	Mandatário na Suíça
	Importador



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna,
Sweden



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland



21 Histórico de revisões

Secção	Descrição da alteração
Tabela de símbolos	Adição do símbolo do CH REP e do importador, bem como definições na tabela de símbolos. Adição da informação do CH REP e do importador, incluindo o endereço na Suíça.
Histórico de revisões	Atualização da tabela relativa ao histórico de revisões.